

29.10.2004

日本国特許庁  
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 9月26日  
Date of Application:

REC'D 23 DEC 2004

WIPO

PCT

出願番号 特願2003-336555  
Application Number:  
[ST. 10/C]: [JP2003-336555]

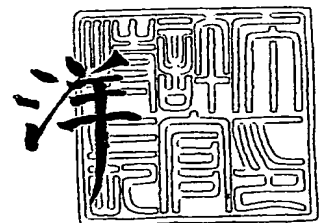
出願人 柚 源一郎  
Applicant(s):

**PRIORITY  
DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

2004年12月 9日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

小川



出証番号 出証特2004-3112336

BEST AVAILABLE COPY

【書類名】 特許願  
【整理番号】 P03-0025  
【提出日】 平成15年 9月26日  
【あて先】 特許庁長官 殿  
【国際特許分類】 C08B 37/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 山口県下関市稗田中町 5-33-402  
    【氏名】 稲川 裕之  
【発明者】  
    【住所又は居所】 広島県広島市南区旭 1-4-41  
    【氏名】 河内 千恵  
【発明者】  
    【住所又は居所】 東京都世田谷区東玉川 1-10-21  
    【氏名】 柚 源一郎  
【特許出願人】  
    【識別番号】 390025210  
    【氏名又は名称】 柚 源一郎  
【代理人】  
    【識別番号】 100110191  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 中村 和男  
【手数料の表示】  
    【予納台帳番号】 140410  
    【納付金額】 21,000円  
【提出物件の目録】  
    【物件名】 特許請求の範囲 1  
    【物件名】 明細書 1  
    【物件名】 要約書 1

**【書類名】 特許請求の範囲****【請求項 1】**

植物成分を主成分とする培養液を用いることを特徴とする免疫賦活物質含有生物の培養方法。

**【請求項 2】**

前記植物成分は、小麦粉であることを特徴とする請求項 1 記載の培養方法。

**【請求項 3】**

前記植物成分は、おからであることを特徴とする請求項 1 記載の培養方法。

**【請求項 4】**

前記免疫賦活物質含有生物は、小麦粉常在菌であることを特徴とする請求項 2 又は 3 記載の培養方法。

**【請求項 5】**

前記小麦粉常在菌は、パントエア アグロメランス (*Pantoea agglomerans*) であることを特徴とする請求項 4 記載の培養方法。

**【請求項 6】**

前記植物成分は、わかめエキスであることを特徴とする請求項 1 記載の培養方法。

**【請求項 7】**

前記免疫賦活物質含有生物は、わかめ常在菌であることを特徴とする請求項 6 記載の培養方法。

**【請求項 8】**

請求項 1 乃至 6 いずれかに記載の培養方法によって得られることを特徴とする免疫賦活物質含有の培養液。

**【請求項 9】**

請求項 8 記載の培養液から得られることを特徴とする免疫賦活物質。

**【請求項 10】**

請求項 8 記載の培養液を濃縮したことを特徴とする免疫賦活物質含有のエキス。

**【請求項 11】**

免疫賦活物質が低分子量リポ多糖であることを特徴とする請求項 8 記載の培養液。

**【請求項 12】**

免疫賦活物質が低分子量リポ多糖であることを特徴とする請求項 9 記載の免疫賦活物質。

**【請求項 13】**

免疫賦活物質が低分子量リポ多糖であることを特徴とする請求項 10 記載のエキス。

## 【書類名】 明細書

【発明の名称】 培養方法、培養液、免疫賦活物質及びエキス

## 【技術分野】

## 【0001】

本発明は、ヒトを含む哺乳動物（具体的には家畜、愛玩動物など）、鳥類（具体的には養鶏、愛玩鳥類など）、両生類、は虫類、魚類（具体的には、愛玩魚類など）、無脊椎動物及び植物などの動植物に及ぶ医薬品、医薬部外品、化粧品、機能性食品、飼料、肥料及び浴用剤などに添加しても安全な免疫賦活物質含有生物の培養方法、培養によって得られる免疫賦活物質含有の培養液、その培養液から得られる免疫賦活物質、及び、その免疫賦活物質を濃縮したエキスに関する。

## 【背景技術】

## 【0002】

ヒトを含む哺乳動物（具体的には家畜、愛玩動物など）、鳥類（具体的には養鶏、愛玩鳥類など）、両生類、は虫類、魚類（具体的には、愛玩魚類など）、無脊椎動物及び植物に関して、感染防除技術を含む疾病予防・治療法を確立することは喫緊の課題である。しかもこれを達成する上では、化学物質を用いず、環境汚染がなく、耐性菌を生ずることなく、人体に蓄積性がない方法が強く求められている。本発明者らは如上の課題に関して、すでに天然物由来の免疫賦活物質が疾病予防・治療効果を安全に達成することを発見した（非特許文献1）。その一例として小麦粉常在菌であるパントエア アグロメランス（*Pantoea agglomerans*）から得た低分子量リポ多糖（以下「リポ多糖」のことを「LPS」（lipopolysaccharide）と言う）を用いることができる（特許文献1）。

## 【0003】

【特許文献1】 特願 2003-069095

【特許文献2】 特開平 8-198902 号公報

【特許文献3】 特開平 4-187640 号公報

【特許文献4】 特開平 4-49240 号公報

【特許文献5】 特開平 4-99481 号公報

【特許文献6】 特開平 5-155778 号公報

【非特許文献1】 Nishizawa, T. 外 7 名, "Chem. Pharm. Bull.", 1992年, 第40巻, p479-483

【非特許文献2】 Nunes, C. 外 3 名, "Int. J. Food Microbiol.", 2001年, 第70巻, p53-61

【非特許文献3】 稲川 裕之 外 6 名, "Biotherapy", 1992年, 第6巻, p358-359

【非特許文献4】 オー・ウエストファール (O. Westphal) 編, 「メソッズ・イン・カーボハイドレート・ケミストリー (Methods in Carbohydrate Chemistry)」, アカデミック・プレス (Academic Press), 1965年, 第5巻, p83

【非特許文献5】 Inagawa, H. 外 8 名, "Chem. Pharm. Bull.", 1992年, 第40巻, p94-997

【非特許文献6】 合田 朗 外 4 名, 「初歩微生物学」、廣川書店、1981年、p23-26

## 【発明の開示】

## 【発明が解決しようとする課題】

## 【0004】

既述したように、免疫賦活物質は植物に常在する微生物の構成成分又は生産物である場合が多い。従って、天然物由来の免疫賦活物質を得ようとするれば、植物に常在する微生物を効率よく培養してその構成成分又は生産物を取得することが有用である。しかし、例えば小麦粉常在菌であるパントエア アグロメランスの構成成分である低分子量LPSを抽出するには、これまでは動物由来の成分、例えばNZアミンやトリプトンやカザミノ酸、を含む培養液を用いる必要があり、培養液自体が高価であるとともに動物由来の微生物等の混在が問題とされた。現在は経口で投与したり、動物に用いたりする機能性成分を製造する過程には動物由来の成分を用いないことが求められている。しかも汎用性の高い免疫

賦活物質はできるだけ安価に供給されなければならない。

【0005】

本発明は、上記問題点に鑑み、動物由来の成分を用いる必要がなく、かつ、安価に製造することができる免疫賦活物質含有生物の培養方法、培養液、免疫賦活物質及びエキスを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0006】

本発明の培養方法は、植物成分を主成分とする培養液を用いるものである。

【0007】

また、前記植物成分は、小麦粉、おから又はわかめエキスであることが望ましい。

【0008】

また、前記免疫賦活物質含有生物は、小麦粉常在菌又はわかめ常在菌であることが望ましい。

【0009】

また、前記小麦粉常在菌は、パントエア アグロメランズ (*Pantoea agglomerans*) であることが望ましい。

【0010】

また、本発明は上記培養方法によって得られる免疫賦活物質含有の培養液である。

【0011】

また、本発明は該培養液から得られる免疫賦活物質である。

【0012】

また、上記培養液を濃縮した免疫賦活物質含有のエキスである。

【0013】

また、上記免疫賦活物質が低分子量リポ多糖であることが望ましい。

【発明の効果】

【0014】

本発明によれば、動物由来の成分を用いることなく、かつ、安価に免疫賦活物質含有生物を培養することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0015】

以下、本発明の好適な実施の形態について詳細に説明する。

I: パントエア アグロメランズ含有小麦粉発酵エキスの製造方法

パントエア アグロメランズ (*Pantoea agglomerans*) は小麦に常在性の細菌であり、小麦にリン、窒素の供給を行うことから小麦栽培に有用な菌であると考えられる (非特許文献1)。また、パントエア アグロメランズは小麦のみならず、梨やリンゴの果実の表皮に付着しており、この菌が付着しているとカビによる腐れ病が予防できることがヨーロッパにおいて明らかにされ、本菌を無毒で、自然環境に優しい防かび剤として開発が進んでいる (非特許文献2)。以上のことから、本菌の社会的なニーズが高まっている。

【0016】

一方、我々はパントエア アグロメランズには免疫を賦活化する有効な成分が含まれていることをこれまでに明らかにしてきた。また、この菌はヒトやマウスの諸疾患 (糖尿病、高脂血症、アトピー性皮膚炎、がん) 等の予防効果があること、魚や甲殻類、トリの感染予防に有効であることを見いだしている (非特許文献3)。小麦粉にはパントエア アグロメランズ生菌が多く含まれているが、上述の効果を期待するためには多量の小麦粉の摂取が必要になる (非特許文献1)。

【0017】

そこで、我々は、(1). パントエア アグロメランズを低コストで培養し、(2). 小麦に含まれるパントエア アグロメランズを多く含む素材を調製し、これを用いることでヒトを

含む哺乳動物（具体的には家畜、愛玩動物など）、鳥類（具体的には養鶏、愛玩鳥類など）、両生類、は虫類、魚類（具体的には、愛玩魚類など）、無脊椎動物及び植物などの動植物に及ぶ医薬品、医薬部外品、化粧品、機能性食品、飼料、肥料及び浴用剤を開発すること、に着目した。すなわち、パントエア アグロメランスを多く含む小麦粉発酵エキスを低コストで作成できれば、(1).パントエア アグロメランスの安価な提供が可能なことから、具体的な例として(2).ヒト、畜産・水産養殖の分野で環境に優しく、安全で感染予防に有効な医薬部外品、化粧品、機能性食品、飼料、肥料を提供できること、を着想した。

#### 【0018】

そして、本件において、パントエア アグロメランスの生菌ならびにパントエア アグロメランス由来の免疫賦活物質を多く含む小麦粉発酵エキスを安価に製造する方法を発明した。

#### 【0019】

本実施の形態ではパントエア アグロメランスが示す免疫賦活作用を担う有効成分の一つとして低分子量LPSに注目し、培養条件の検討及び低分子量LPS含量測定を行った。低分子量LPSについては特許文献2に詳述されているが要点を記載すれば以下の通りである。なお、本実施例は低分子量LPSに関するものであるが、植物が小麦、常在菌がパントエア アグロメランス、免疫賦活物質が低分子量LPSに限定されることを意味する訳ではない。

#### 【0020】

低分子量LPSは、汎用されている高分子量型のLPS（以下通常のLPS）に比べて極めて安全性が高く、かつ生物活性も通常のLPSに比して優れている。

#### 【0021】

##### 1: パントエア アグロメランスの分離

小麦粉を水に懸濁し、上澄み液をLプロス寒天培地に塗り広げ培養を行うと、微生物のコロニーが出現する。これらのコロニーを定法により微生物の同定を行う。例えば、グラム染色陰性、グルコース嫌氣的代謝反応陽性、オキシダーゼ活性陰性のコロニーを選択し、さらに、IDテスト・EB-20（日水製薬）等を用いて、エンテロバクター属でスタンダードのパントエア アグロメランスと同じ性質を有するものを選択する。スタンダードとなるパントエア アグロメランスは理化学研究所生物基盤研究部微生物系統保存施設より入手可能である。（非特許文献1）

#### 【0022】

##### 2: 低分子量LPSの理化学的性質

すなわち低分子量LPSは、微生物菌体から得られ、次のa)～c)の理化学的性質

- a) タンパク質マーカーを用いてSDS-PAGE法で測定した分子量が5,000±2,000であり、他に染色帯を実質的に認めないこと
- b) エルソン-モルガン法により測定したヘキソサミン含量が1～3個/分子量5,000であること
- c) ジフェニルアミン法により測定した2-ケト-3-デオキシオクトネート含量が1～3個/分子量5,000であること

を有する。

#### 【0023】

さらに低分子量LPSは、微生物菌体から得られ、次のd)～f)の生物学的性質

- d) リムラス活性が、少なくとも10EU/ngであること
- e) タンパク質含量が、1%以下であること
- f) 核酸含量が、1%以下であること

を有する。

#### 【0024】

また、この低分子量LPSは、前記の微生物が、グラム陰性の微生物であることさらにはそのグラム陰性微生物が、パントエア(Pantoea)属に属する微生物又はサルモネラ(Sal

monella)属に属する微生物であることを望ましい態様としてもいる。以下の説明において、百分率の表示は、特に断りのない限り、重量による値である。

#### 【0025】

##### 3: 低分子量LPSの製造方法

この低分子量LPSは、グラム陰性の微生物、例えば、パントエア属に属する微生物又はサルモネラ属に属する微生物等を、常法により培養し、培地から菌体を集め、集めた菌体から公知の方法、例えば、熱フェノール法（非特許文献4）、により抽出し、さらに、陰イオン交換樹脂により精製して製造できる。すなわち、微生物の菌体を蒸留水に懸濁し、この懸濁液を蒸留水及び等容量の熱フェノールの混合液に添加して攪拌し、次いで遠心分離して水層を回収し、この水層を透析してフェノールを除去し、限外濾過法により濃縮して粗LPS画分を採取し、この画分を常法の陰イオン交換クロマトグラフィー（例えば、モノQ-セファロース又はQ-セファロースを使用する）により精製し、常法により脱塩する。

#### 【0026】

このようにして得られた精製LPSは特許文献3、特許文献4、特許文献5及び特許文献6号公報に開示される分子量5,000から6,000程度のLPSと実質的に等しい。さらに、得られた精製LPSを、例えばデオキシコール酸ナトリウム等の界面活性剤の存在下でゲル濾過し、低分子量LPSを含有する画分のみを回収し、混在する高分子量LPSを除去することによって、高度に精製された低分子量LPSを得ることができる。この界面活性剤存在下でのゲル濾過の工程は、特許文献3、特許文献4及び特許文献6に開示される分子量5,000から6,000程度のLPSを更に高度に精製するためのものであり、この工程により混在する高分子量LPSがほぼ完全に排除される。

#### 【0027】

ところで培養法は上述の場合公知の方法であり、動物由来成分が含まれていること、培地自体のコストが高いことから、動植物に例えば機能性食品や機能性飼料として与え、或いは経皮的に用いる場合に、動物成分由来の不純物の混入が問題になること、更に製造コストが高額となり実用性の面から見ると十分な方法であるとはいえない。そこで本発明者らは、鋭意研究を進めた結果、これまでの培養方法に変わるものとして、小麦粉を用いる培養方法を確立して本発明を完成したものである。以下に実施例として発明内容を詳述するが、本発明は実施例記載のパントエア(Pantoea)属に限定されたものではなく、免疫賦活物質を多量に含む他の天然物例えばわかめにも適応できるものであることは言うまでもない。

#### 【0028】

##### II: 発明の重要な点のまとめ

- (1). 小麦粉を用いて菌体を増殖させることが新しい。
- (2). 小麦粉発酵エキスそのものが新規。

#### 【0029】

##### III: 小麦粉発酵エキスの具体的製造方法

1. パントエア アグロメランスは小麦粉より定法に従い単離する（非特許文献1）。なお、一度、単離同定すれば、この菌を50%グリセロール等で保存したり、Lプロス寒天培地等で継代培養が可能である。
2. 0.01~3%の食塩、1~200ミリモルのリン酸緩衝液等を調製する。
3. 2に0.05~5%の濃度になるように小麦粉を加える。
4. 3を場合によってはオートクレープ等で滅菌操作を行う。
5. 4に1で単離したパントエア アグロメランスを添加する。
6. 5を1~40℃で保持して発酵させる。場合によっては震盪してもよい。また、静置培養、数時間おきに攪拌を行うことでもよい。
7. 発酵が進むと小麦粉水溶液が黄色に着色してくる。

8. 7を遠心分離(1000-5000rpm、10-20分間)等の操作によりパントエア アグロメランスを含む固形分を沈殿物として回収する。これはそのまま飼料として又は飼料に混ぜる原料として使うことができる。

9. 小麦粉発酵エキスを作成する場合は、7を加熱処理する。さらに、これを遠心分離や濾過することで、固形分を除去してもよい。

### 【0030】

#### 実施例1

1. 小麦粉0.5gに蒸留水5ml加え懸濁し、上澄みをLプロス寒天培地に0.1ml添加し、37℃で一晩培養した。

2. 黄色のコロニーを単離し、通常の方法で菌を同定し、パントエア アグロメランスを単離した。

3. 2リットルの三角フラスコに1.0リットルの水と、リン酸第一カリウム0.2g、リン酸第二ナトリウム1.15g、食塩8g、塩化カリウム0.2gを加えた。

4. 3に小麦粉5gを加えた。

5. 4をオートクレーブで滅菌した。

6. 種菌の作成。前もって同じ組成で作成しておいた0.5%小麦培地5mlに、2で小麦粉より単離しておいたパントエア アグロメランスのコロニーを一つ加え37℃で一晩(15時間)緩やかに攪拌し、発酵させて、小麦粉発酵用の種菌を準備した。

7. 5に6を全量加え37℃で緩やかに攪拌しながら、48時間発酵させた。

8. 7の小麦粉発酵溶液をオートクレーブで120℃20分間の加熱抽出をした。これを遠心分離(クボタ 8800、2000rpm、10分間)し、上澄みを回収し、小麦粉発酵エキスとした。

9. 小麦粉発酵エキスの低分子量LPS含量を測定するために、LPSの定量キット(LS-1、生化学工業)を用いて測定した。LPSの定量キットは、低分子量から高分子量のLPSを定量することができ、定量の標準品としては通常の高分子量LPSを用いた。従って、LPS含量とは、通常の高分子量LPS相当で表したものである。

10. また、6に含まれるパントエア アグロメランスの菌数を寒天プレートでコロニー形成数を測定して見積もった。

11. 小麦粉発酵エキス中のLPS含量の測定結果を表1に示した。

12. 小麦粉発酵エキス中のLPS含量は65.7 $\mu$ g/mlに達した。一方、一般的な細菌培養培地であるLプロスを用いた場合は335 $\mu$ g/mlであった。

13. 小麦粉発酵物中のパントエア アグロメランスの菌数測定結果を表2に示した。

14. 以上の結果から小麦粉発酵エキスが小麦粉と若干の塩類、種菌としてパントエア アグロメランスの添加で簡便に作成できることを示した。

### 【0031】

#### 【表1】

表1 発酵エキス中のLPS含量

培地	LPS含量( $\mu$ g/ml)
Lプロス	335
小麦粉	65.7

### 【0032】



【表 2】

表2 発酵後の菌数

培地	菌数 ( $\times 10^8$ 個/ml)
Lブロス	8.4
小麦粉	10

## 【0033】

## 実施例 2

1. 2リットルの三角フラスコに1.0リットルの水と、リン酸第一カリウム0.2 g、リン酸第二ナトリウム1.15 g、食塩8 g、塩化カリウム0.2 gを加えた。
2. 1に乾燥おから20 gを加えた。
3. 2をオートクレーブで滅菌した。
4. 種菌の作成。前もって同じ組成で作成した2%おから培地5 mlに小麦粉より単離しておいたパントエア アグロメランスのコロニーを一つ加え37℃で一晩(15時間)緩やかに攪拌し、発酵させて、おから発酵用の種菌を準備した。
5. 3に4を全量加え37℃で緩やかに攪拌しながら、48時間発酵させた。
6. 5のおから発酵溶液をオートクレーブで120℃20分間の加熱抽出をした。これを遠心分離(クボタ 8800、2000 rpm、10分間)し、上澄みを回収し、おから発酵エキスとした。
7. おから発酵エキスのLPS含量を測定するために、LPSの定量キット(LS-1、生化学工業)を用いて測定した。
8. また、4に含まれるパントエア アグロメランスの菌数を寒天プレートでコロニー形成数を測定して見積もった。
9. おから発酵エキス中のLPS含量の測定結果を表3に示した。
10. おから発酵エキス中のLPS含量は145  $\mu\text{g}/\text{ml}$ に達した。
11. おから発酵物中のパントエア アグロメランスの菌数測定結果を表4に示した。
12. 以上の結果からおから発酵エキスがおからと若干の塩類、種菌としてパントエア アグロメランスの添加で簡便に作成できることを示した。

## 【0034】

【表 3】

表3 おから発酵エキス中のLPS含量

培地	LPS含量 ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
おから	145

## 【0035】

【表 4】

表4 おから発酵後の菌数

培地	菌数 ( $\times 10^8$ 個/ml)
おから	6.1

## 【0036】

本件で用いた発酵のコストを表5に示した。非特許文献1で示されているパントエア アグロメランス培養に用いられているLブロスのコストはおおよそ培地1リットルあたり246円であり、小麦粉及びおからを用いて発酵した場合のコストは1リットルあたり16円となる。従って、小麦粉発酵の場合のLPS量はLブロスの5分の1であるが、コスト的に見るとLPSあたりにして、わずかにLブロスの3分の1であり、菌数あたりにすると18分の1に過ぎない。おから発酵の場合のLPS量はLブロスの約2分の1であり、

コスト的に見るとLPSあたりにして、Lブロスの6.7分の1であり、菌数あたりにすると11分の1に過ぎない。小麦粉及びおからを使用した発酵が極めてコスト低減になることが明らかであり、小麦粉及びおからを用いることが優れていることを示している。

【0037】

【表5】

表5 パントエア アグロメランス発酵のコスト

培地	培地コスト (1リットルあたり)	LPSあたりのコスト 比	菌数あたりのコスト 比
Lブロス	246円	1	1
小麦粉	16円	0.33	0.055
おから	16円	0.15	0.090

【0038】

IV: 植物成分としてわかめエキスをを用いて、免疫賦活物質含有生物をわかめ常在菌とすることについて

わかめには1gあたり400 $\mu$ gのLPSが存在することが知られている（非特許文献5参照）。LPSの合成はグラム陰性菌と藍色植物で認められているが、その他の生物では合成することが知られていない。このことから、わかめに存在するLPSはグラム陰性菌か藍色植物に由来すると考えられる。わかめは、動物に見られるような摂取はしないし、腸管のような内腔は存在しないので、グラム陰性菌や藍色植物がわかめに固着して存在しているはずである。藍色植物がわかめに固着して生存する例は知られていない。また、海水には多種の菌が常在することが知られており、わかめに付着している。常に存在する菌を常在菌という。従って、わかめに存在するLPSはわかめの常在菌に由来すると考えられる。このため、植物成分としてわかめエキスをを用いて、免疫賦活物質含有生物をわかめ常在菌とすることも有効である。

【0039】

V: 本発明を適用して有効な免疫賦活物質含有生物と免疫賦活物質の例

表6に本発明を適用して有効な免疫賦活物質含有生物と免疫賦活物質の例を示す。

【0040】

【表 6】

表 6 免疫賦活物質含有生物と免疫賦活物質の例

免疫賦活物質含有生物	免疫賦活物質	説明
パントエア、アグロメラ ンス、大腸菌、緑膿菌、 等のグラム陰性菌	リポ多糖、フラジェリン、非メ チル化 CpGDNA、リポプロテイン、 プロテオグリカン	グラム陰性菌に含まれる既 知のマクロファージ活性化 物質群
乳酸菌、黄色ブドウ球 菌、連鎖球菌等のグラム 陽性菌	リポタイコ酸、ペプチドグリカ ン、リポプロテイン、ムラミル ジペプチド、プロテオグリカ ン、非メチル化 CpGDNA	グラム陽性菌に含まれる既 知のマクロファージ活性化 物質群
結核菌、ライ菌、ノカル ジア等の抗酸菌	リポアラビノマンナン、リポプ ロテイン、非メチル化 CpGDNA、 プロテオグリカン	抗酸菌に含まれる既知のマ クロファージ活性化物質群
マイコプラズマ等のマイ コプラズマ類	リポプロテイン、プロテオグリ カン、非メチル化 CpGDNA、	マイコプラズマに含まれる 既知のマクロファージ活性 化物質群
シイタケ、アガリスクタ ケ、スエヒロタケ等の担 子菌	$\beta$ -グルカン、リグニン、プロ テオグリカン	担子菌に含まれる既知のマ クロファージ活性化物質群

菌の増殖には栄養素として炭素源、窒素源、無機塩類、水を要求する。また、物理的環境としてpH、温度、遊離酸素、浸透圧等に適切な条件がある（非特許文献6参照）。小麦や大豆などの植物の種子には炭水化物（炭素源）、蛋白質（窒素源）、各種ミネラル（無機塩類）が含まれている。従って、これらの水溶液に、各菌に適切なpHと浸透圧を規定する緩衝液を加え、適切な温度と遊離酸素（好気性菌等では酸素供給下、嫌気性菌なら無酸素下）で、菌の培養は可能である。このため、本発明により表6に示す各免疫賦活物質含有生物を培養することによって各免疫賦活物質を得ることができる。

【0041】

なお、本発明は上記実施の形態に限定されるものではない。

## 【書類名】要約書

## 【要約】

【課題】動物由来の成分を用いる必要がなく、かつ、安価に免疫賦活物質含有生物を培養する方法を提供すること。

【解決手段】小麦粉又はおからを主成分とする培養液を用いて、小麦粉常在菌であるパントエア アグロメランスを培養する培養方法。これによりパントエア アグロメランスを安価に得ることができ、また、これにより免疫賦活物質である低分子量リポ多糖を安価に得ることができる。さらに、これらには動物成分由来の不純物の混入の問題がない。

特願 2 0 0 3 - 3 3 6 5 5 5

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 3 9 0 0 2 5 2 1 0 ]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 1 1 月 2 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都世田谷区東玉川 1 - 1 0 - 2 1

氏 名

柚 源一郎

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**